

МОДИФИКАЦИЯ АКТИВАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ $Na_v1.8$ КАНАЛОВ ОБЕСПЕЧИВАЕТ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ОТВЕТА

© 2018 г. О.Е. Дик, Б.В. Крылов, В.Б. Плахова, А.Д. Ноздрачев

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

E-mail: dick@infran.ru

Поступила в редакцию 14.09.18 г.

На модели мембраны сенсорного нейрона доказано, что возникающая в ответ на повреждающее болевое воздействие эктопическая пачечная активность определяется динамикой единственной медленной переменной, описывающей процесс инактивации медленных натриевых каналов $Na_v1.8$, и может быть подавлена исключительно модификацией активационной воротной системы этих каналов действием на мембрану анальгезирующего вещества коеновой кислоты, являющейся лекарственной субстанцией нового разрабатываемого анальгетика аноцептина. Показано, что в условиях блокирования калиевого тока пачечная активность первого типа подавляется после модификации коеновой кислотой каналов $Na_v1.8$ при всех значениях проводимости этих каналов, а пачечная активность второго типа сохраняется, но диапазон значений стимула, при которых она возможна, значительно уменьшается.

Ключевые слова: медленные натриевые каналы $Na_v1.8$, бифуркационный анализ, эктопическая пачечная активность.

DOI: 10.1134/S0006302918060121

Для сенсорных нейронов спинальных ганглиев характерен потенциалозависимый механизм возникновения пачечной активности после повреждающего болевого воздействия [1,2]. Однако однозначный ответ на вопрос о том, какие именно ионные каналы входящих токов вносят основной вклад в возникновение пачечных разрядов при повреждающем воздействии, до сих пор не получен. Множество медиаторов, присутствующих в поврежденных тканях, способно различным образом изменять кинетику входящих токов, и остается неизвестным, проявляется ли это проноцицептивное воздействие (оно моделируется увеличением стимулирующего тока) в увеличении плотности каналов или только в изменении их кинетики [3]. В работе [4] мы показали, что коеновая кислота, изменяющая характеристики активационной воротной системы медленных натриевых каналов $Na_v1.8$, может не только снижать частоту ритмических разрядов мембраны ноцицептивного нейрона, но и подавлять эктопические пачечные разряды. Нами также учитывалась роль каналов задержанного калиевого тока, процесс активации которых описывался медленной переменной, и наличие этой (второй в модели) медленной переменной не позволило исключить влияние медленной динамики калиевого тока на появление

пачечных разрядов. Кроме того, в интервалах между этими разрядами возникали медленные колебания большой амплитуды, не обнаруживаемые в физиологических экспериментах. Все это заставило нас исключить калиевые токи из нашего рассмотрения, что позволило выяснить специфическую роль инактивационной воротной системы каналов $Na_v1.8$ в механизме генерации эктопических разрядов.

Целью данной работы является доказательство того, что в условиях блокирования калиевого тока эктопическая пачечная активность, возникающая в ноцицептивных нейронах в ответ на проноцицептивное воздействие, может поддерживаться динамикой исключительно натриевых токов (быстрых и медленных) и токов через каналы утечки, а подавление этой активности может быть обеспечено исключительно модификацией активационной воротной системы медленных натриевых каналов после действия на мембрану анальгезирующего вещества коеновой кислоты. В связи с тем, что получение такого доказательства методами экспериментальной физиологии довольно затруднительно из-за влияния множества факторов на ответы мембраны живой клетки, в данной работе использовали метод математического моделирования.

Модель мембраны ноцицептивного нейрона, определяющая связь мембранного потенциала E , переменные m , h , b , s , r активации и инактивации ионных каналов и величину стимулирующего тока I задавали системой уравнений:

$$\frac{dE}{dt} = (I - I_{NaI}(m, h, E) - I_{NaI}(b, E) - I_L(E) - I_{NaS}(s, r, E))/c_m, \quad (1)$$

$$\frac{dx}{dt} = (x_\infty(E) - x)/\tau_x(E), \quad x = m, h, b, s, r,$$

где

$$\begin{aligned} I_{NaI} &= g_{Na} m^3 h (E - E_{Na}), \\ I_{NaI}(b, E) &= g_{NaI} m I_\infty(E) b (E - E_{Na}), \\ I_{NaS}(s, r, E) &= g_{NaS} s^3 r (E - E_{Na}), \end{aligned}$$

$c_m = 1$ мкФ/см² – емкость мембраны; $g_{Na} = 40$ мС/см², $g_{NaI} = 27$ мС/см², $g_{NaS} = 5$ мС/см² – максимальные проводимости каналов быстрого, промежуточного и медленного натриевого тока; $g_L = 1.4$ мС/см² – максимальная проводимость каналов утечки; $E_{Na} = 62$ мВ, $E_L = -77$ мВ – равновесные потенциалы для Na⁺ и ионов утечки. Потенциалозависимые характеристики воротных процессов всех каналов, кроме каналов Na_v1.8, детально описаны в работе [5]. Функции $s_\infty(E)$, $r_\infty(E)$, $\tau_s(E)$ и $\tau_r(E)$ для активации и инактивации медленных натриевых каналов Na_v1.8 были определены до (в контрольных экспериментах) и после воздействия на мембрану нейрона 5-гидрокси-γ-пирон-2-карбоновой (коеновой) кислоты, являющейся лекарственной субстанцией разрабатываемого нового неопиоидного анальгетика аноцептина [6]. В контрольных экспериментах эти функции имели следующий вид:

$$\begin{aligned} s_\infty(E) &= 1/(1 + \exp(-(E + 22)/16)), \\ r_\infty(E) &= 1/(1 + \exp((E + 34)/11)), \\ \tau_s(E) &= 2 + 25\exp(-((E + 50)/65)^2), \\ \tau_r(E) &= 50 + 250\exp(-((E + 21)/31)^2), \end{aligned}$$

после воздействия коеновой кислоты они изменялись следующим образом:

$$\begin{aligned} s_\infty(E) &= 1/(1 + \exp(-(E + 10)/25)), \\ r_\infty(E) &= 1/(1 + \exp((E + 32)/11)), \\ \tau_s(E) &= 2 + 30\exp(-((E + 30)/85)^2), \\ \tau_r(E) &= 45 + 250\exp(-((E + 19)/31)^2). \end{aligned}$$

Подчеркнем, что используемая модель не учитывает вклад калиевых токов в генерацию эктопической импульсной активности.

Наши расчеты показывают, что изменения в инактивационной воротной системе этих каналов после воздействия исследуемого агента были незначительны (рис. 1б, 1г), и это вещество в основном влияет на активационную воротную систему медленного канала Na_v1.8 (рис. 1а, 1в). Это позволило проанализировать на модели результаты модификации исключительно активационной воротной системы канала Na_v1.8.

Для анализа изменений, происходящих в паттернах импульсной активности ноцицепторов в ответ на проноцицептивное воздействие, были исследованы соотношения между типом устойчивого решения модели и величиной внешнего стимула до и после модификации модели путем построения однопараметрических бифуркационных диаграмм системы (1) на плоскости (I, E) , которые затем были перестроены в двухпараметрические диаграммы на плоскости (I, g_{NaS}) . Для этого применяли метод бифуркационного анализа [7] и пакет программ MATCONT [8]. Численные решения системы (1) находили методом Рунге–Кутты четвертого порядка, модифицированным алгоритмом Гира с выбором переменного шага интегрирования.

На рис. 2а, 2б представлены бифуркационные диаграммы, определяющие границы областей ритмических колебаний, возникающих в результате бифуркации Андронова–Хопфа (сплошная линия). До модификации эта область лежит в пределах значений проводимости медленных натриевых каналов g_{NaS} от 5 до 12 мС/см² и значений стимулирующего тока от 7,7 до 24,8 мкА/см² (рис. 2а), а после модификации – в пределах от значений 7,5 до 27,5 мкА/см² (рис. 2б).

До модификации активационной воротной системы каналов Na_v1.8 в модели могут возникать пачечные разряды двух типов (рис. 2в, 2г). Пачечная активность первого типа в форме дуплетов, триплетов и мультиплетов с подпороговыми колебаниями в интервалах между пачками наблюдается при значениях параметров g_{NaS} и I , лежащих между двумя кривыми бифуркации удвоения периода (пунктирные линии слева на рис. 2а). В диапазоне значений параметров между кривой бифуркации Андронова–Хопфа и бифуркацией удвоения периода ритмическая активность существует в виде синглетных колебаний, при которых один импульс большой амплитуды чередуется с двумя подпороговыми колебаниями малой амплитуды. При увеличении стимулирующего тока бифуркация удвоения периода приводит к появлению пачечной активности в виде дуплетов, в которых происходит чередование двух импульсов

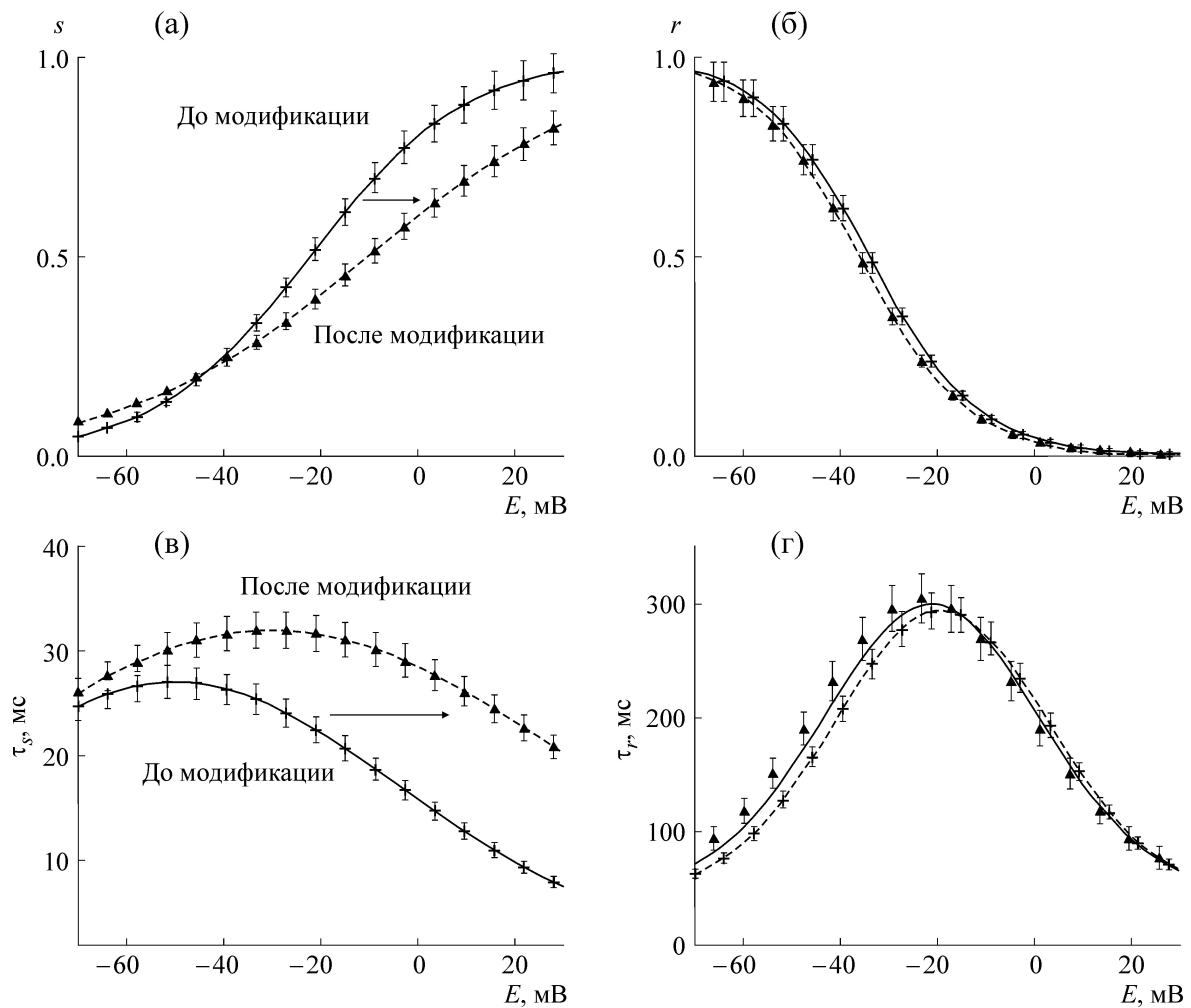


Рис. 1. Кривые $s_{\infty}(E)$ и $\tau_s(E)$ активации натриевого канала $\text{Na}_V1.8$ и кривые $r_{\infty}(E)$ и $\tau_r(E)$ его инактивации. Сплошные кривые соответствуют зависимостям, полученным до воздействия на мембрану нейрона коеновой кислоты, пунктирные кривые – после воздействия.

большой амплитуды с одним подпороговым колебанием. В диапазоне значений параметров g_{NaS} и I , лежащих между кривыми бифуркации тора (пунктирные линии справа на рис. 2а), наблюдается пачечная активность второго типа, при которой подпороговые колебания в интервалах между пачками отсутствуют, а пачки содержат большое число импульсов. Между кривыми бифуркации удвоения периода и бифуркации тора в модели существуют только быстрые колебания. Как показано на рис. 2а, при увеличении натриевой проводимости медленных натриевых каналов область пачечной активности первого типа расширяется незначительно, а области быстрых колебаний и пачечных колебаний второго типа значительно сужаются.

После модификации активационной воротной системы каналов $\text{Na}_V1.8$ область пачечной

активности второго типа значительно уменьшается, так что при любом значении их проводимости пачечные разряды наблюдаются в меньшем диапазоне значений стимула. Пачечные разряды первого типа с подпороговыми осцилляциями в интервалах между пачками, так же как и синглетные колебания, исчезают, а диапазон значений стимула, в котором существуют быстрые ритмические колебания, значительно увеличивается.

Таким образом, показано, что в условиях блокирования калиевого тока после модификации коеновой кислотой медленных натриевых каналов $\text{Na}_V1.8$ пачечная активность первого типа подавляется при всех значениях проводимости этих каналов. Пачечная активность второго типа сохраняется, но диапазон значений стимула, при которых она возможна, значительно уменьшается.

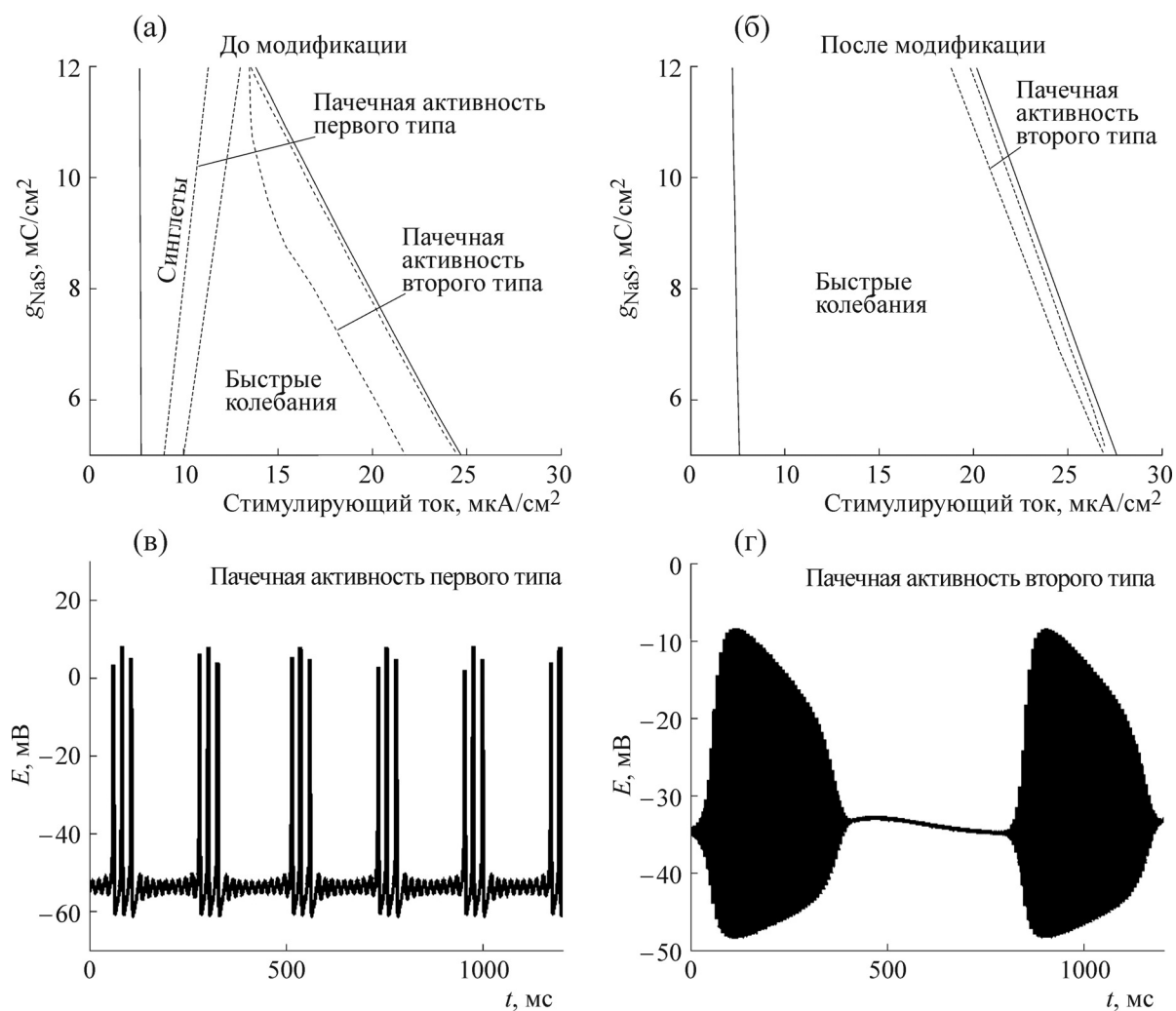


Рис. 2. Области периодической и пачечной активности первого и второго типа модели ноцицептивного нейрона, построенные на плоскости (I, g_{NaS}) до (а) и после (б) модификации натриевых каналов $Na_v1.8$, и примеры этой активности (в, г).

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 64) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-015-00071).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. Amir, M. Michaelis, and M. Devor, *J. Neurosci.* **22** (3), 1187 (2002).
2. M. Devor, *Exp. Brain Res.* **196** (1), 115 (2009).
3. S. Bevan and N. Storey, *Novartis Found. Symp.* **241**, 144 (2002).
4. О. Е. Дик, Б. В. Крылов и А. Д. Ноздрачев, *Докл. РАН* **473** (6), 728 (2017).
5. Y. Kovalsky, R. Amir, and M. Devor, *J. Neurophysiol.* **102** (3), 1430 (2009).
6. B. V. Krylov, I. V. Rogachevskii, T. N. Shelykh, and V. B. Plakhova. *New non-opioid analgesics: understanding molecular mechanisms on the basis of patch-clamp and quantum-chemical studies* (Bentham sci. publ., Sharjah, 2017).
7. Y. A. Kuznetsov. *Elements of Applied Bifurcation Theory* (Springer, Berlin, 1998).
8. A. Dhooge, W. Govaerts, Y. A. Kuznetsov, et al., *MatCont and CL_Matcont Continuation toolboxes in MATLAB* (Utrecht University, Utrecht, 2006).

Modification of Activation System of $Na_v1.8$ Channels Determines Molecular Mechanism of Antinociceptive Response

O.E. Dick, B.V. Krylov, V.B. Plakhova, and A.D. Nozdrachev

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, St. Petersburg, 199034 Russia

Using the sensory neuron membrane model we have shown that the ectopic bursting activity, arising in response to the pronociceptive stimulus is determined by the dynamics of the system with one slow variable describing inactivation process of slow sodium $Na_v1.8$ channels. This activity can be suppressed exclusively by modification of activation gating system of these channels under the influence of comenic acid, which is a medicinal substance of the novel non-opioid analgesic “anoceptin”. It has been shown, that when the potassium channels are blocked, the bursting activity of the first type is suppressed after modification of $Na_v1.8$ channels caused by the comenic acid at positive and negative conductance and the bursting activity of the second type is kept at the same level, but the range of stimuli within which this activity may occur significantly decreases.

Keywords: slow sodium channels $Na_v1.8$, bifurcation analysis, ectopic bursting activity